

ВЛИЯНИЕ АНТИТЕЛ К ЭСТРАДИОЛУ И ПРОГЕСТЕРОНУ НА СОДЕРЖАНИЕ ЭТИХ ГОРМОНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

© 2017 г. А.Н. Глушков^{*,**}, Е.Г. Поленок^{*}, М.В. Костянко^{**}, А.В. Антонов^{***}, Н.Е. Вержбицкая^{****}, И.А. Вафин^{*****}, С.Е. Рагожина^{*****}

**ФГБНУ Федеральный исследовательский центр угля и углехимии
СО РАН, Институт экологии человека, Кемерово, Россия;*

***ФГБОУ ВПО Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия;*

****ГБУЗ КО Областной клинический онкологический диспансер, Кемерово, Россия;*

*****ГБУЗ КО ОТ Кемеровское областное патологоанатомическое бюро, Кемерово, Россия;*

******ГКУЗ КО Кемеровский областной центр крови, Кемерово, Россия*

Поступила: 22.09.2016. Принята: 22.11.2016

Исследовали антитела, специфичные к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону (IgA-Вр, IgA-Es и IgA-Pg) у здоровых женщин в постменопаузе и больных раком молочной железы (РМЖ) полуколичественным иммуноферментным методом. Обнаружили прямые линейные взаимосвязи между уровнями IgA-Вр, с одной стороны, и IgA-Es и IgA-Pg, с другой стороны. При совместном образовании IgA-Es и IgA-Pg повышался риск возникновения ER+PR+, но не ER+PR- и ER-PR- РМЖ. Концентрация Es в сыворотке крови больных РМЖ была выше, а Pg ниже, чем у здоровых. Содержание Es и Pg у здоровых женщин было выше в присутствии IgA-Es и IgA-Pg, чем при отсутствии указанных антител. При совместном образовании IgA-Es и IgA-Pg у больных ER+PR+ РМЖ содержание Es не изменилось, а Pg было выше, чем при отсутствии этих антител. Таким образом, у здоровых женщин в фазе промоции канцерогенеза IgA-Es и IgA-Pg стимулировали пролиферацию ER+PR+ эпителиальных клеток молочной железы. У больных РМЖ IgA-Es и IgA-Pg тормозили прогрессию опухоли. Предположили, что индукция IgA-Вр может повлечь за собой образование антител к другим эндогенным стероидам и изменения в обмене минералокортикоидов и глюкокортикоидов. Поэтому применение антиканцерогенных вакцин для активной иммунопрофилактики рака у человека может привести к негативным гормональным сдвигам в организме, вплоть до стимуляции сопутствующих заболеваний. Иммуноанализ IgA-Es и IgA-Pg может оказаться полезным для определения риска возникновения ER+ РМЖ и лечения селективными модуляторами ER.

Ключевые слова: рак молочной железы, антитела, эстрадиол, прогестерон, рецепторы эстрогенов, рецепторы прогестерона

Адрес: 650065 г. Кемерово, пр. Ленинградский, д. 10.
Тел./факс (3842) 57-50-79. Глушков Андрей Николаевич.

E-mail: ihe@list.ru

Авторы:

Глушков А. Н., д.м.н., профессор, директор Института экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН, Кемерово, Россия;

Поленок Е. Г., к.фарм.н., зав. лабораторией иммунохимии Института экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН, Кемерово, Россия;

Костянко М. В., ведущий инженер кафедры органической химии химического факультета ФГБОУ ВПО

«Кемеровский государственный университет», Кемерово, Россия;

Антонов А. В., зав. маммологическим отделением в ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», Кемерово, Россия;

Вержбицкая Н. Е., к.м.н., зав. патологоанатомическим отделением в Кемеровском патологоанатомическом бюро, Кемерово, Россия;

Вафин И. А., главный врач ГКУЗ КО «Кемеровский областной центр крови», Кемерово, Россия;

Рагожина С. Е., заместитель главного врача по медицинской части ГКУЗ КО «Кемеровский областной центр крови» Кемерово, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

В многочисленных экспериментах было показано, что специфические антитела способны угнетать транспорт химических канцерогенов через монослой эпителиальных клеток *in vitro* [1, 2], проникновение их из окружающей среды в кровь *in vivo* [3–5] и тормозить канцерогенез у животных [6–10]. Стратегия активной иммунопрофилактики рака предполагает индукцию секреторных антител против химических канцерогенов [11, 12]. Однако при этом не учитывается, что в химическом канцерогенезе принимают большое участие вещества, усиливающие иницирующее действие канцерогенов – так называемые промоторы, у человека – стероидные гормоны [13]. Это имеет особое значение в возникновении гормонально зависимых опухолей. Между тем, известно, что иммунизация животных против стероидных гормонов приводит к индукции специфических антител, изменениям содержания этих гормонов в крови и модулированию их биологических эффектов [14–17]. Иммунизация мышей против эстрадиола приводила к торможению роста эстрогензависимых опухолей [18]. Поэтому в выборе оптимальной стратегии иммунопрофилактики рака у человека необходимо исследовать особенности образования и механизмы действия не только антител к химическим канцерогенам, но и антител к эндогенным стероидам.

В предыдущих работах обнаружили, что одновременное повышение уровней антител к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону (IgA-Bp, IgA-Es и IgA-Pg) было ассоциировано с раком лёгкого у мужчин и раком молочной железы у женщин в гораздо большей степени, чем повышение их уровней по отдельности [19–21]. Очевидно, выявленные ассоциации обусловлены влиянием IgA-Es и IgA-Pg на содержание этих гормонов в крови и взаимосвязаны с наличием соответствующих рецепторов в опухолях (ER и PR).

Цель настоящей работы – исследовать взаимосвязи IgA-Bp, IgA-Es и IgA-Pg и предполагаемое влияние IgA-Es и IgA-Pg на содержание Es и Pg в сыворотке крови здоровых женщин и больных раком молочной железы с учётом рецепторного статуса опухоли.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В обследовании приняли участие 488 женщин в постменопаузе. В исследуемую группу были включены 266 женщин с диагнозом инвазивная карцинома молочной железы, которые поступили на лечение в Областной

клинический онкологический диспансер г. Кемерово. Диагноз рак молочной железы (РМЖ) в каждом случае был подтвержден морфологически. Средний возраст больных РМЖ составил $62,5 \pm 8,9$ года. Нами были выделены 3 группы в зависимости от рецепторного статуса опухоли молочной железы: рецептор-негативные (ER–PR–), рецептор-положительные (ER+PR+) и смешанные (ER+PR–). Информация о рецепторном статусе опухоли (ER+/-, PR+/-) у больных РМЖ была взята из протоколов патологоанатомического отделения. В группу сравнения были включены 222 здоровые женщины без патологии молочной железы (средний возраст – $58,7 \pm 5,7$ лет). Забор периферической крови осуществлялся согласно этическим стандартам в соответствии с Хельсинской декларацией 1975 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г. Все лица, участвовавшие в исследовании, дали информированное письменное согласие на участие в нем.

Концентрацию эстрадиола (Es) и прогестерона определяли с помощью коммерческих наборов «ИммуноФА-Эстрадиол», «ИммуноФА-ПГ» («Иммунотех», г. Москва) согласно инструкции по применению.

Иммуноанализ антител (АТ) к бензо[а]пирену (Bp), эстрадиолу (Es) и прогестерону (Pg) проводили с помощью неконкурентного иммуноферментного анализа в собственной модификации [22]. В качестве антигена на полистирольные иммунологические планшеты были иммобилизованы конъюгаты Bp, Es и Pg с бычьим сывороточным альбумином (BSA). Конъюгат Es-BSA был синтезирован путем присоединения BSA к эстрадиолхинонам, полученным окислением Es солью Фреми. Конъюгат Pg-BSA был получен путем конъюгации гемиглутарата 21-гидроксипрогестерона и BSA карбодиимидным способом. Связавшиеся АТ выявляли с помощью козьих АТ против IgA человека, меченных пероксидазой хрена (Novex, США). Уровни АТ выражали в относительных единицах и вычисляли по формуле:

$$\text{IgA-X} = (\text{OD}_{\text{X-BSA}} - \text{OD}_{\text{BSA}}) / \text{OD}_{\text{BSA}}$$

где X = Bp, Es, Pg; $\text{OD}_{\text{X-BSA}}$ – связывание АТ с конъюгатами гаптен-BSA, OD_{BSA} – фоновое связывание с BSA.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft Inc., USA). Ненормальный характер

Таблица 1. Взаимосвязи уровней антител, специфичных к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону (IgA-Vp, IgA-Es, IgA-Pg) в сыворотке крови здоровых женщин и больных раком молочной железы (PMЖ)

Антитела		Здоровые женщины N = 222	PMЖ ER-PR- N = 75	PMЖ ER+PR- N = 42	PMЖ ER+PR+N = 141
x	y	$r_s(p)$ $y = \alpha \cdot x + b$	$r_s(p)$ $y = \alpha \cdot x + b$	$r_s(p)$ $y = \alpha \cdot x + b$	$r_s(p)$ $y = \alpha \cdot x + b$
IgA-Vp	IgA-Es	0,65(<0,0001) $y = 0,6 \cdot x + 1,0$	0,80 (<0,0001) $y = 0,6 \cdot x + 1,4$	0,74 (<0,0001) $y = 1,1 \cdot x + 0,6$	0,76 (<0,0001) $y = 0,5 \cdot x + 1,9$
IgA-Vp	IgA-Pg	0,53(<0,0001) $y = 0,6 \cdot x + 1,4$	0,64 (<0,0001) $y = 0,6 \cdot x + 1,2$	0,64 (<0,0001) $y = 0,9 \cdot x + 0,1$	0,72 (<0,0001) $y = 0,8 \cdot x + 0,9$
IgA-Es	IgA-Pg	0,76(<0,0001) $y = 0,8 \cdot x + 0,8$	0,65 (<0,0001) $y = 0,7 \cdot x + 0,7$	0,65 (<0,0001) $y = 0,5 \cdot x + 0,7$	0,69 (<0,0001) $y = 0,8 \cdot x + 0,8$

распределения показателей выявили с помощью критерия Шапиро–Уилка, различия между группами определяли с помощью U-критерия Манна–Уитни при уровне значимости $p < 0,05$ и непараметрического критерия χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность вариации. При расчете критерия χ^2 исследуемые признаки группировались в четырехпольную таблицу (d.f. = 1). Ассоциации между уровнями АТ и рецепторным статусом опухоли оценивали на основании показателя отношения шансов (OR) с доверительным интервалом (CI) при 95% уровне значимости. Для выявления пороговых значений уровней АТ (cut-off) был проведен ROC-анализ [23]. Взаимосвязи между уровнями специфичных АТ и концентрацией Es оценивали с помощью коэффициента корреляции рангов Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Взаимосвязи уровней антител к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону в сыворотке крови здоровых женщин и больных раком молочной железы

Между IgA-Vp (x), с одной стороны, и IgA-Es и IgA-Pg (y), с другой стороны, были выявлены прямые линейные взаимосвязи с коэффициентами корреляции $r_s = 0,53–0,80$ у здоровых женщин и больных PMЖ (в том числе с разным рецепторным статусом). Это же самое можно сказать и о взаимосвязях IgA-Es и IgA-Pg между собой (табл. 1).

В связи с этим возникает вопрос о специфичности выявляемых антител. Если это одни и те же антитела, реагирующие со всеми тремя исследуемыми гаптенами, то индукция антител против Vp повлечёт за собой перекрёстные реакции с Es и Pg с последующим вероятным

влиянием последних на содержание этих гормонов в сыворотке крови и неизбежным вмешательством в процессы промощии.

Однако, этому противоречит тот факт, что в некоторых случаях как у здоровых женщин, так и больных PMЖ имеет место образование антител только против одного из исследуемых гаптенных, как было обнаружено ранее [19–21] и подтверждено в настоящей работе (табл. 2). Аналогичные результаты были получены при исследовании антител против схожих по структуре полициклических ароматических углеводородов у здоровых людей. Обнаружены перекрёстные реакции антител с Vp и хризеном, бенз[а]антрацен и хризеном, а также реакции с каждым из этих соединений по отдельности [24]. Поэтому нельзя исключить того, что обнаруженные нами антитела происходят из разных клонов лимфоцитов.

В любом случае, при разработке стратегии активной иммунопрофилактики рака необходимо учитывать возможность индукции антител против эндогенных стероидов после применения антиканцерогенных вакцин.

Ассоциации антител к эстрадиолу и прогестерону с раком молочной железы

В табл. 2 приведены результаты исследования особенностей образования IgA-Es и IgA-Pg у здоровых женщин и больных PMЖ с учётом рецепторного статуса опухоли. При анализе каждого из них по отдельности выяснилось, что Ig-Es, но не IgA-Pg встречались статистически значимо чаще у больных с ER+PR+ PMЖ (52,5%), по сравнению со здоровыми (29,7%, $p < 0,0001$). Больные ER-PR- и ER+PR- не отличались значимо от здоровых по частоте обнаружения высоких уровней IgA-Es (37,3 и 45,2% соответственно).

Таблица 2. Количество случаев (n) и частота (%) обнаружения низких (≤ 3) и высоких (> 3) уровней антител класса А к эстрадиолу и прогестерону (IgA-Es и IgA-Pg) в сыворотке крови здоровых женщин и больных раком молочной железы (PMЖ) с учетом рецепторного статуса опухоли

Антитела и их комбинации	Здоровые женщины N = 222	PMЖ ER-PR- N = 75	PMЖ ER+PR- N = 42	PMЖ ER+PR+ N = 141
	n/%	n/% χ^2 (p) OR(95%CI)	n/% χ^2 (p) OR(95%CI)	n/% χ^2 (p) OR(95%CI)
IgA-Es > 3	66/29,7	28/37,3 1,2 (0,28)	19/45,2 3,2 (0,07)	74/52,5 17,9 (<0,0001) 2,6 (1,7-4,0)
IgA-Pg > 3	79/35,6	22/29,3 0,7 (0,37)	10/23,8 1,7 (0,19)	60/42,6 1,5 (0,22)
1. IgA-Es ≤ 3 IgA-Pg ≤ 3	126/56,8	42/56 0,0 (0,98)	23/54,8 0,0 (0,94)	54/38,3 11,0 (0,0009) 0,5 (0,3-0,7)
2. IgA-Es > 3 IgA-Pg ≤ 3	17/7,6	11/14,7 1,8 (0,18)	9/21,4 4,2 (0,04) 2,9 (1,2-7,3)	27/19,1 13,7 (0,0002) 3,7 (1,9-7,4)
3. IgA-Es ≤ 3 IgA-Pg > 3	30/13,5	5/6,7 1,3 (0,25)	1/2,4 2,3 (0,12)	13/9,2 0,02 (0,88)
4. IgA-Es > 3 IgA-Pg > 3	49/22,1	17/22,7 0,0 (0,96)	9/21,4 0,04 (0,82)	47/33,3 8,9 (0,003) 2,2 (1,3-3,7)

Поскольку в настоящей работе были исследованы антитела к двум гаптенам, возможны 4 комбинации их в разных образцах сыворотки крови.

Отсутствие или низкие уровни и IgA-Es, и IgA-Pg (комбинация 1) обнаружены у здоровых женщин и больных ER-PR- и ER+PR- PMЖ с одинаковой частотой (56,8, 56,0 и 54,8%). У больных ER+PR+ PMЖ этот показатель был значительно ниже (38,3%, $p = 0,0009$).

Высокие уровни только IgA-Es при отсутствии IgA-Pg (комбинация 2) у больных PMЖ обнаружены чаще, чем у здоровых: при ER-PR- недостоверно, при ER+PR- и ER+PR+ с достоверностью $p = 0,04$ и $p = 0,0002$ соответственно.

Высокие уровни только IgA-Pg при отсутствии IgA-Es (комбинация 3) у больных PMЖ выявлялись реже, чем у здоровых, но статистически недостоверно.

Одновременное повышение уровней и IgA-Es, и IgA-Pg (комбинация 4) имело место с одинаковой частотой у здоровых женщин (22,1%) и больных ER-PR- (22,7%) и ER+PR- (21,4%). У больных ER+PR+ эта комбинация обнаружена значительно чаще (33,3%, $p = 0,003$).

Таким образом, обнаружена положительная ассоциация IgA-Es с ER+ PMЖ, в том числе,

с ER+PR+ PMЖ в комбинации с IgA-Pg. Очевидным объяснением выявленной ассоциации представляется влияние исследуемых антител на содержание Es и Pg в сыворотке крови.

Влияние антител к эстрадиолу и прогестерону на содержание этих гормонов в сыворотке крови у здоровых женщин и больных раком молочной железы

Сначала с помощью иммуноанализа измерили содержание Es и Pg в 66 случайно отобранных образцах сыворотки здоровых женщин и в 141 образце сыворотки больных ER+PR+ PMЖ. Выяснилось, что количество Es у больных ($Me = 0,34$ нмоль/л) значительно превышает такое у здоровых ($Me = 0,15$ нмоль/л, $p < 0,0004$). И наоборот, концентрация Pg у больных ($Me = 0,75$ нмоль/л) значительно ниже, чем у здоровых ($Me = 1,4$ нмоль/л, $p < 0,0001$).

Затем провели анализ количества случаев с низким ($\leq Me$) и высоким ($> Me$) содержанием указанных гормонов при низких (≤ 3) и высоких (> 3) уровнях исследуемых антител у здоровых женщин и больных ER+PR+ PMЖ. Результаты предоставлены в **табл. 3**.

Таблица 3. Количество случаев (n) и частота (%) обнаружения низких (\leq Me) и высоких ($>$ Me) концентраций эстрадиола и прогестерона (Es, Pg) при низких (≤ 3) и высоких (> 3) уровнях соответствующих антител (IgA-Es, IgA-Pg) в сыворотке крови здоровых женщин и больных раком молочной железы (PMЖ ER+PR+)

Антитела и их комбинации	Здоровые женщины (N = 66)				Больные PMЖ ER+PR+ (N = 141)			
	Es \leq 0,15	Es $>$ 0,15	Pg \leq 1,4	Pg $>$ 1,4	Es \leq 0,34	Es $>$ 0,34	Pg \leq 0,75	Pg $>$ 0,75
	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%
IgA-Es ≤ 3	20/57,9	9/29,0	17/58,6	12/32,4	34/49,3	33/45,8	41/56,9	26/37,7
IgA-Es > 3	15/42,9	22/71,0	12/41,4	25/67,6	35/50,7	39/54,2	31/43,1	43/62,3
χ^2 (p)	4,2(0,04)		3,5(0,06)		0,1(0,81)		4,5(0,03)	
IgA-Pg ≤ 3	20/57,1	9/29,0	18/62,1	11/29,7	34/49,3	47/65,3	54/75,0	27/39,1
IgA-Pg > 3	15/42,9	22/71,0	11/37,9	26/70,3	35/50,7	25/34,7	18/25,0	42/60,9
χ^2 (p)	4,2(0,04)		5,6(0,02)		3,1(0,08)		17,1(0,0001)	
1. IgA-Es ≤ 3 IgA-Pg ≤ 3	17/48,6	8/25,8	17/58,6	8/21,6	26/37,7	28/38,9	36/50,0	18/26,1
2. IgA-Es > 3 IgA-Pg > 3	12/34,2	21/67,7	11/37,9	22/59,5	27/39,1	20/27,8	13/18,1	34/49,3
χ^2 (p)	4,5(0,03)		5,5(0,02)		0,5(0,46)		13,8(0,0002)	

Выяснилось, что у здоровых женщин в постменопаузе (т.е. в фазе промощии канцерогенеза) высокое содержание Es имело место значительно чаще при высоких уровнях IgA-Es (71,0%), чем при низких уровнях IgA-Es (29,0%, $p = 0,04$). Аналогичное превышение содержания Pg при высоких уровнях IgA-Es оказалось малодостоверным ($p = 0,06$).

При высоких уровнях IgA-Pg у здоровых женщин частота обнаружения повышенного содержания Es (71,0%) и Pg (70,3%) оказалась значительно выше, чем при низких уровнях IgA-Pg (29,0% и 29,7% соответственно, $p = 0,04$ и $0,02$).

При одновременном повышении уровней и IgA-Es и IgA-Pg частота обнаружения повышенного содержания Es и Pg была значительно чаще (67,7 и 59,5%), чем при одновременном отсутствии или низких уровнях обоих антител (25,8 и 21,6% соответственно, $p = 0,03$ и $0,02$).

Таким образом, у здоровых женщин IgA-Es и IgA-Pg по отдельности и вместе способствуют повышению содержания Es и Pg в сыворотке крови. Поэтому, очевидно, эпителиальные клетки молочной железы, содержащие ER и PR, получают дополнительный стимул к пролиферации. Ранее было показано, что длительный приём эстрогенов в комплексе с прогестероном повышают риск возникновения PMЖ у здоровых женщин [25].

Полученные нами результаты позволяют утверждать, что IgA-Es и IgA-Pg принимают участие в канцерогенезе молочной железы

в фазе промощии за счёт повышения содержания Es и Pg в сыворотке крови с последующей стимуляцией пролиферации ER+PR+ эпителиальных клеток.

У больных ER+PR+ PMЖ (т.е. в фазе прогрессии канцерогенеза) высокие уровни IgA-Es не влияют на содержание Es. При этом частота случаев с высоким содержанием Pg ($> 0,75$ нмоль/л) значительно превышала таковую, если уровни IgA-Es были ≤ 3 (62,3 против 37,7%, $p = 0,03$). При высоких уровнях IgA-Pg имела место тенденция к снижению Es в сыворотке крови (34,7 против 65,3% при низких уровнях IgA-Pg, $p = 0,08$), и значительно повышалась частота обнаружения высоких концентраций Pg (60,9 против 39,1%, $p = 0,0001$). Совместное повышение уровней и IgA-Es, и IgA-Pg не влияли на содержание Es, но было значительно ассоциировано с увеличением частоты обнаружения высоких концентраций Pg (49,3 против 26,1%, $p = 0,0002$).

Известно, что Pg ингибирует Es-обусловленный рост ER+ эксплантатов раковых клеток молочной железы и усиливает антипролиферативный эффект при совместном воздействии с ER антагонистами [26]. Очевидно, в условиях повышенного содержания Es в сыворотке крови с пониженным содержанием Pg у больных PMЖ повышение концентрации Pg под влиянием IgA-Es и IgA-Pg препятствует прогрессии опухоли. По-видимому, это является одним из факторов, обуславливающих более

благоприятный прогноз ER+PR+ РМЖ по сравнению с ER- и PR-вариантами РМЖ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Влияние IgA-Es и IgA-Pg на содержание этих гормонов в сыворотке крови – лишь небольшой фрагмент участия антител в канцерогенезе у человека. Ранее были обнаружены ассоциации IgG-Es и IgG-Pg совместно с IgG-Vp с РМЖ [27]. Аналогичные ассоциации IgA- и IgG-антител к Vp, Es и Pg имели место и при раке лёгкого у мужчин [19]. Не исключено, что в последнем случае они также обусловлены воздействием на ER и PR, экспрессируемые в нормальных и злокачественных клетках лёгкого [28], опосредованно через гормоны. Учитывая способность Vp к связыванию с ER [29], целесообразно дальнейшее исследование совместных эффектов антител к Vp, Es и Pg на возникновение опухолей с учётом их рецепторного статуса.

Особого внимания заслуживает ранее обнаруженные ассоциации антиидиотипических антител (IgG-Es2) и соответствующих первых антител к Es (IgG-Es1) с ER+PR– и ER+PR+, но не с ER–PR– РМЖ [30]. С одной стороны, IgG-Es2 способны модулировать взаимодействия IgG-Es1 и IgA-Es1 с Es. С другой стороны, не исключено прямое воздействие IgG-Es2 на мембранные рецепторы Es нормальных и злокачественных клеток. Аналогичными способностями могут обладать IgG-Pg2 и IgG-Vp2. Образование последних обнаружено у здоровых людей и больных РМЖ и раком лёгкого [31, 32].

Сильные взаимосвязи антител к половым гормонам с антителами к Vp предполагает влияние последних на образование антител и к другим стероидам – минералокортикоидам и глюкокортикоидам. В этом случае возможно вмешательство иммунных реакций на химические канцерогены в патогенез заболеваний, обусловленных изменениями их содержания в организме.

Таким образом, активная иммунизация человека против химических канцерогенов весьма вероятно может приводить к непредсказуемым последствиям вследствие сопутствующих специфических иммунных реакций на эндогенные стероиды. Поэтому поиск альтернативных путей иммунопрофилактики рака (например, с использованием человеческих рекомбинантных антител против полициклических углеводородов [33, 34]) представляется актуальной задачей.

Практическое значение полученных результатов состоит в возможности определения риска ER+PR+ РМЖ у здоровых женщин в постменопаузе. Это позволяет обоснованно принять селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов (тамоксифена, ролосифена и других) [35] для предупреждения РМЖ с более высокой эффективностью.

Работа выполнена в рамках проекта № 59.1.1. Программы фундаментальных научных исследований СО РАН.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят академика Л. Н. Иванову за содействие в развитии выбранного направления исследований; сотрудников лаборатории иммунохимии ИЭЧ СО РАН Аносову Т. П., Аносова М. П., Красильникову К. С., Гурова Е. А. за техническую поддержку настоящей работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. De Buck S. S., Augustijns P., Muller C. P. Specific antibody modulates absorptive transport and metabolic activation of benzo[a]pyrene across Caco-2 monolayers. *J. Pharmacol. Experim. Therap.* 2005, 313(2), 640–646.
2. De Buck S. S., Schellenberger M. T., Ensch C., Muller C. P. Effects of antibodies induced by a conjugate vaccine on 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone absorptive transport, metabolism, and proliferation of human lung cells. *Int. J. Cancer* 2010, 1, 127(3), 513–520.
3. Moolten F. L., Schreiber B., Rizzone A. Protection of mice against 7.12 – dimethylbenz(a)anthracene – induced skin tumors by immunization with fluorinated analog of carcinogen. *Cancer Res.* 1981, 41, 452–459.
4. Silbart L. K., Keren D. F. Reduction of intestinal carcinogen absorption by carcinogen-specific immunity. *Science* 1989, 243, 1462–1464.
5. Silbart L. K., Mc Allen F., Rasmussen H. V. Selective induction of mucosal immune responses to 2-acetylaminofluorene. *Anticancer Res.* 1996, 16, 651–660.
6. Moolten F. L., Schreiber B., Rizzone A. Protection of mice against 7.12 – dimethylbenz(a)anthracene – induced skin tumors by immunization with fluorinated analog of carcinogen. *Cancer Res.* 1981, 41, 452–459.
7. Peck R. M., Peck E. B. Inhibition of chemically induced neoplasia by immunization with an antigenic carcinogen-protein conjugate. *Cancer Res.* 1971, 31, 1550–1554.

8. Cernohorska H., Klimesova S., Lepsa L., Jinoch P., Milcova A., Schmuczerova J., Topinca J., Labaj J. Influence of immunization with non-genotoxic PAH-KLH conjugates on the resistance of organisms exposed to benzo[a]pyrene. *Mut. Res.* 2012, 742, 2–10.
9. Galati R., Crebelli R., Zijno A., Conti L., Falasca G., Verdina A. The effect of humoral immunity against adducted benzo[a]pyrene on DNA damage elicited by acute carcinogen exposure in Swiss mice. *In Vivo* 2000, 14(6), 747–751.
10. Tompa A., Curtis G., Ryan W., Kusrynski C., Langenbach R. Benzo[a]pyrene antibody inhibition of benzo[a]pyrene-induced mutagenesis. *Cancer Lett.* 1979, 7, 163–169.
11. Silbart L.K., Rasmussen H.V., Oliver A.R. Immunoprophylactic intervention in chemical toxicity and carcinogenicity. *Vet. Hum. Toxicol.* 1997, 39(1), 37–43.
12. De Buck S.S., Muller C.P. Immunopropylactic approaches against chemical carcinogenesis. *Vaccine* 2005, 23(17–18), 2403–2406.
13. Худoley В. В. Канцерогены: характеристики, закономерности, механизмы действия. НИИ Химии СПбГУ, Санкт-Петербург 1990, 419 с.
14. Sundaram K., Tsong Y.Y., Hood W., Brinson A. Effect of immunization with estrone-protein conjugate in rhesus monkeys. *Endocrinology* 1973, 93(4), 843–847.
15. Schwartz U., Dyrenfurth I., Khalaf S., Vande Wiele R.L., Ferin M. A comparison of the effects of active immunization of female rhesus monkeys to estradiol-17 or progesterone-20-protein conjugates. *J. Steroid Biochem.* 1975, 6(3–4), 541–545.
16. Hillier S.G., Groom G.V., Boyns A.R., Cameron E.H. Effects of active immunisation against steroids upon circulating hormone concentrations. *J. Steroid Biochem.* 1975, 6(3–4), 529–535.
17. Rawlings N.C., Kennedy S.W., Henricks D.M. The active immunization of the cyclic ewe against an estrone protein conjugate. *Theriogenology* 1979, 12(3), 139–151.
18. Caldwell B.V., Tillson S.A., Esber H., Thorneycroft I.H. Survival of tumors after immunization against estrogens. *Nature* 1971, 231(14), 118–119.
19. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Костянюк М.В., Титов В.А., Вафин И.А., Рагожина С.Е. Взаимное влияние антител к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону на риски возникновения рака легкого. *Российский иммунологический журнал* 2015, 9(18), 3, 343–349. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Kostyanko M.V., Titov V.A., Vafin I.A., Ragozhina S.E. Mutual effects of antibodies to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone on the lung cancer risks. *Russian Journal of Immunology* 2015, 9(18), 3, 343–349.]
20. Glushkov A.N., Polenok E.G., Ustinov V.A. Immunomodulation of human carcinogenesis by the serum antibodies to environmental carcinogens and endogenous steroids. *Open Immunol. Journal* 2016, 6(3), 67–72.
21. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Магарилл Ю.А., Аносова Т.П., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е. Антитела к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону у больных раком молочной железы в постменопаузе. *Сибирский онкологический журнал* 2016 (в печати). [Glushkov A.N., Polenok E.G., Magarill Y.A., Anosova T.P., Antonov A.V., Verzhbitskaya N.E. Antibodies to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone in the postmenopausal breast cancer women. *Siberian Journal of Oncology* 2016 (in press).]
22. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Аносова Т.П., Савченко Я.А., Баканова М.Л., Минина В.И., Мун С.А., Ларин С.А., Костянюк М.В. Сывороточные антитела к бензо[а]пирену и хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови у рабочих углеперерабатывающего предприятия. *Российский иммунологический журнал* 2011, 5(14), 1, 39–44. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Anosova T.P., Savchenko Ya.A., Bakanova M.L., Minina V.I., Mun S.A., Larin S.A., Kost'anko M.V. Serum antibodies to benzo[a]pyrene and chromosomal aberrations in lymphocytes peripheral blood at the workers of coal processing enterprise. *Russian Journal of Immunology* 2011, 5(14), 1, 39–44.]
23. Hajian-Tilaki K. Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. *Caspian J. Intern. Med.* 2013, 4(2), 627–635.
24. Newman M.J., Light B.A., Weston A., Tollurud D., Clark J.L., Mann D.L., Blackmon J.P., Harris C.C. Detection and characterization of human serum antibodies to polycyclic aromatic hydrocarbon diol-epoxide DNA adducts. *J. Clin. Invest.* 1988, 82(1), 145–153.
25. Chlebowski R.T., Anderson G.L., Gass M., Lane D.S., Aragaki A.K., Kuller L.H., Manson J.E., Stefanick M.L., Ockene J., Sarto G.E., Johnson K.C., Wactawski-Wende J., Ravdin P.M., Schenken R., Hendrix S.L., Rajkovic A., Rohan T.E., Yasmeen S., Prentice R.L.; WHI Investigators. Estrogen plus progestin and breast cancer incidence and mortality in postmenopausal women. *JAMA* 2010, 304(15), 1684–1692.
26. Mohammed H., Russell I.A., Stark R., Rueda O.M., Hickey T.E., Tarulli G.A., Serandour A.A., Birrell S.N., Bruna A., Saadi A., Menon S., Hadfield J., Pugh M., Raj G.V., Brown G.D., D'Santos C., Robinson J.L., Silva G., Launchbury R., Perou C.M., Stingl J., Caldas C., Tilley W.D., Carroll J.S. Progesterone receptor modulates ER α action in breast cancer. *Nature* 2015, 523(7560), 313–317.
27. Glushkov A., Polenok E., Kostyanko M., Antonov A., Verzhbitskaya N., Vafin I., Ragozhina S. Postmenopausal breast cancer risk in relation to antibodies specific to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone. *Iran J. Cancer Prev.* 2016, 9(2), e4212.
28. Stabile L.P., Dacic S., Land S.R., Lenzner D.E., Dhir R., Acquafondata M., Landreneau R.J., Grandis J.R., Siegfried J.M. Combined analysis of estrogen receptor beta-1 and progesterone receptor expression identifies lung cancer patients with poor outcome. *Clin. Cancer Res.* 2011, 17(1), 154–164.

29. Charles G.D., Bartels M.J., Zacharewski T.R., Gollapudi B.B., Freshour N.L., Carney E.W. Activity of benzo[a]pyrene and its hydroxylated metabolites in an estrogen receptor-alpha reporter gene assay. *Toxicol. Sci.* 2000, 55(2), 320–326.
30. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Костянко М.В., Антонов А.В., Верзбицкая Н.Е., Вафин И.А., Рагожина С.Е. Ассоциации сывороточных антител к эстрадиолу с рецепторами эстрогенов в опухоли у больных раком молочной железы. *Российский иммунологический журнал* 2016, 10(19), 2, 166–173. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Kostyanko M.V., Antonov A.V., Verzhbitskaya N.E., Vafin I.A., Ragozhina S.E. Associations of the serum antibodies to estradiol and the tumor estrogen receptors at the breast cancer patients. *Russian Journal of Immunology* 2016, 10(19), 2, 166–173.]
31. Glushkov A.N., Klimov I.A., Anosova T.P., Schukina M.L. Antibodies to polycyclic aromatic hydrocarbons in sera of patients with malignant mammary tumors. *Experim. Oncol.* 1996, 18(3), 284–286.
32. Ustinov V.A., Matveeva V.A., Kostyanko M.V., Glushkov A.N. Antibodies against benzo[a]pyrene in immunized mouse and lung cancer patients. *Experim. Oncol.* 2013, 35(3), 207–210.
33. Глушков А.Н. Клиническая иммунохимия канцерогенеза: новые задачи и перспективы. *Российский иммунологический журнал* 2013, 7(16), 1, 27–34. [Glushkov A.N. Clinical immunochemistry of carcinogenesis: new challenges and prospects. *Russian Journal of Immunology* 2013, 7(16), 1, 27–34.]
34. Ustinov V.A., Studennikov A.E., Vavilov V.A., Tyumentseva M.A., Morozova V.V., Tikunova N.V., Glushkov A.N. Generation and characterization of human single-chain antibodies against polycyclic aromatic hydrocarbons. *Immunol. Invest.* 2015, 44(6), 536–552.
35. Martino S., Costantino J., McNabb M., Mershon J., Bryant K., Powles T., Secrest R.J. The role of selective estrogen receptor modulators in the prevention of breast cancer: comparison of the clinical trials. *Oncologist* 2004, 9(2), 116–125.

EFFECT OF ANTIBODIES TO ESTRADIOL AND PROGESTERONE ON THE CONCENTRATIONS THESE HORMONES IN SERUM OF HEALTHY WOMEN AND BREAST CANCER PATIENTS

A.N. Glushkov^{*,**}, E.G. Polenok^{*}, M.V. Kostyanko^{**}, A.V. Antonov^{***},
N.E. Verzhbitskaya^{****}, I.A. Vafin^{*****}, S.E. Ragozhina^{*****}

^{*}The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Institute of Human Ecology, Kemerovo, Russia;

^{**}Kemerovo State University, Kemerovo, Russia;

^{***}Regional Clinical Oncology Hospital, Kemerovo, Russia;

^{****}Pathologoanatomic Bureaus, Kemerovo, Russian Federation;

^{*****}Regional Center of Blood, Kemerovo, Russia

Received: 22.09.2016. Accepted: 22.11.2016

Antibodies to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone (IgA-Bp, IgA-Es and IgA-Pg) in the serum of 222 postmenopausal healthy women (HW) and 266 breast cancer patients (BCP) were studied. Positive linear correlations IgA-Es and IgA-Pg with IgA-Bp were found in all the groups ($r_s = 0,53-0,8$, $p < 0,0001$). Frequency of high both IgA-Es and IgA-Pg levels (33,3%) was more high at ER+PR+ BCP than at HW (22,1%) and ER-PR- (22,7%) and ER+PR- (21,4%) BCP (OR = 2,2). Frequency of high Es concentration ($>0,15$ nmol/l) and Pg concentration ($>1,4$ nmol/l) in the serum of HW were revealed when both IgA-Es and IgA-Pg levels were high (67,7 and 59,5%) instead of these levels were low (25,8 and 21,6% correspondingly). Frequency of high Pg concentration ($>0,75$ nmol/l) were more high when both IgA-Es and IgA-Pg levels were high (49,3%) instead of these levels were low (26,1%) in the serum of ER+PR+ BCP. So IgA-Es together with IgA-Pg stimulated proliferation of normal ER+PR+ mammary cells (promotion of carcinogenesis), but inhibited proliferation of ER+PR+ malignant mammary cells (progression of carcinogenesis). It was supposed that induction IgA-Bp by anti-carcinogens vaccines for active cancer immunoprevention could stimulate antibodies formation against other endogenous steroids, mineralocorticoids and glucocorticoids, with the following negative consequences. There is the reason to use IgA-Es and IgA-Pg immunoassay for ER+PR+ breast cancer prediction and following prevention by selective modulators of ER (tamoxifen and others).

Key words: breast cancer, antibodies, estradiol, progesterone, estrogen receptors, progesterone receptors

Authors:

Glushkov A. N., MD, Professor, Director of Institute of Human Ecology of FRC CCC SB RAS, Kemerovo, Russia. 650065 Russia, Kemerovo, avenue Leningradsky, 10. Tel./Fax (3842) 57-50-79.

E-mail: ihe@list.ru

Polenok E. G., PhD (Candidate of Pharmacy), Chief of Immunochemistry Laboratory of Institute of Human Ecology of FRC CCC SB RAS, Kemerovo, Russia;

Kostyanko M. V., Leading Engineer of the Department of Organic Chemistry of Faculty of Chemistry of Kemerovo State University, Kemerovo, Russia;

Antonov A. V., Chief of Mammology Department of Regional Clinical Oncology Hospital, Kemerovo, Russia;

Verzhbitskaja N. E., PhD (Candidate of Medicine), Chief of Pathoanatomical Department of Pathoanatomic Bureaus, Kemerovo, Russia;

Vafin I. A., Main Physician of Regional Center of Blood, Kemerovo, Russia;

Ragozhina S. E., Assistant of Main Physician on Medicine of Regional Center of Blood, Kemerovo, Russia.